

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of :

Hess-Stumpp et al.

Serial No. : 09/961,403

Filed : September 25, 2001

For : METHOD FOR IN VITRO DIAGNOSIS OF ENDOMETRIOSIS

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D. C. 20231

Sir:

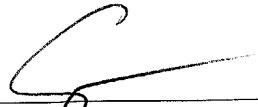
Submitted herewith is a certified copy of each of the below-identified document(s),
benefit of priority of each of which is claimed under U.S.C. § 119:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NO.</u>	<u>FILING DATE</u>
Germany	100 48 633.9	September 25, 2000

Acknowledgment of the receipt of the above document(s) is requested.

No fee is believed to be due in association with this filing, however, the Commissioner is
hereby authorized to charge fees under 37 CFR 1.16 and 1.17 which may be required to facilitate
this filing, or credit any overpayment to Deposit Account #13-3402.

Respectfully submitted,



Anthony J. Zelano
Registration No. 27,969
Attorney for Applicants

MILLEN, WHITE, ZELANO
& BRANIGAN, P.C.
Arlington Courthouse Plaza 1
2200 Clarendon Blvd. Suite 1400
Arlington, Virginia 22201
Telephone: (703) 243-6333
Facsimile: (703) 243-6410

Attorney Docket No.: SCH-1789

Date: January 4, 2002

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 48 633.9

Anmeldetag: 25. September 2000

Anmelder/Inhaber: Schering AG, Berlin/DE

Bezeichnung: Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

IPC: C 07 H, C 12 Q, G 01 N

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. September 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag



Ebert

5 Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnostik von Endometriose.

Endometriose ist eine der häufigsten gynäkologischen Erkrankungen, von der schätzungsweise 5-10% aller Frauen im reproduktionsfähigen Alter betroffen sind (Sillem, M. 1998; Programmed[®] 23, Suppl. 1, 1-28). Sie ist gekennzeichnet durch das Vorkommen von Endometriumsgewebe außerhalb der physiologischen Schleimhautauskleidung des Uterus. Neben Schmerzen und zahlreichen anderen Symptomen sind viele Endometriosepatientinnen steril, und ein großer Teil der IVF-Patientinnen (IVF – in vitro Fertilisation) leidet an Endometriose (Adamson, G.D. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 263-271). In jüngster Zeit mehren sich Publikationen, die für eine genetische Prädisposition bei der Entwicklung einer Endometriose sprechen (Kennedy, S. 1997; Sem. Reprod. Biol. 15, 309-318). So wurde der Verlust von Tumorsuppressormolekülen sowie familiäre Häufungen bei Endometriose-Patientinnen beschrieben.

Zur Zeit wird die Endometriose mit Hilfe der Laparoskopie diagnostiziert. Dies ist eine invasive Methode, die häufig zu Komplikationen führt (Chapron C. et al. 1998; Hum. Reprod. 13, 867-872; Jansen F. W. et al, 1997; Br. J. Obstet. Gynecol. 104, 595-600). Sie wird unter Narkose durchgeführt und setzt einen voll eingerichteten Operationssaal voraus.

Daher besteht ein Bedarf an neuen Diagnostikmethoden. Wünschenswert wäre eine Methode, die für die Patientinnen weniger belastend wäre und die vom behandelnden Arzt durchgeführt werden könnte.

Dieses Problem wird erfindungsgemäß gelöst durch die Identifizierung von bei der Endometriose differentiell regulierten Genen und die Bereitstellung einer Methode zur Detektion ihrer Genprodukte.

Die Erfindung betrifft eine Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1,

5 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV
 alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde
 Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer
 Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer
 Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt
 10 auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

Die Gruppe der Gene wird in Abbildung 1 näher beschrieben. Die Expressionsstärke,
 d.h. die Menge des Genproduktes von mindestens einem der in Abbildung 1
 genannten Gene in einer Patientinnenprobe wird bestimmt und mit der aus einer
 Kontrollprobe (Frau ohne Endometriose) verglichen. Die zu vergleichenden Proben
 15 müssen beide aus der sekretorischen Phase, also aus dem Bereich Tag 15-28 nach
 der letzten Menstruation stammen. Eine verminderte Expressionsstärke von
 mindestens einem der o.g. Gene in der Patientinnenprobe deutet auf das Vorliegen
 einer Endometriose hin.

Eine Patientinnenprobe kann eine Probe vom Endometriumgewebe,
 20 Peritonealflüssigkeit, Blut, vaginales Sekret oder Urin der Patientin sein.

Ein Genprodukt ist entweder mRNA, die daraus abgeleitete cDNA, ein Polypeptid
 oder Teile eines Polypeptids. Die Aminosäuresequenzen der Polypeptide sind in
 Abbildung 2 dargestellt.

Die erfindungsgemäße Methode kann zur erstmaligen Diagnose von Endometriose
 25 eingesetzt werden. In diesem Fall wird die Menge des Genproduktes in der
 Patientinnenprobe mit einer Kontrollprobe von nicht erkrankten Frauen verglichen.
 Die erfindungsgemäße Methode kann auch zur Beurteilung des Verlaufs der
 Krankheit verwendet werden. So kann z.B. der Erfolg einer Therapie bestimmt
 werden. In diesem Fall wird die Patientinnenprobe mit einer älteren Probe derselben
 30 Patientin verglichen.

Das Genprodukt Polypeptid oder ein Teilstück eines Polypeptids wird durch
 Immunassays detektiert. Dazu werden spezifische Antikörper gegen eines oder
 mehrere Polypeptide ausgewählt aus der in Abbildung 2 beschriebenen Gruppe,
 hergestellt. Die Antikörper können monoklonal oder polyklonal sein. Sie können
 35 gegen jeweils das gesamte Polypeptid oder gegen Fragmente davon gerichtet sein.
 Die Gewinnung eines solchen Antikörpers erfolgt nach Standardmethoden durch

- 5 Immunisierung von Versuchstieren. Die Antikörper werden dann z.B. in einem ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay), in einem RIA (radioimmunoassay) oder in der Immunhistochemie zur Bestimmung der Menge des Genproduktes verwendet (Aoki, K. et al. 1996; Forensic Sci. Int. 80, 163-173).

Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen Antikörper-Chips zur Diagnose von Endometriose. Antikörper-Chips sind miniaturisierte Träger, meist aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche Antikörper bekannter Spezifität in einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Detektion der Protein/Protein Interaktionen kann durch Massenspektrometrie, Fluoreszenz oder surface plasmon resonance erfolgen. Es können Antikörper, welche die aus der in
10 Abbildung 2 beschriebenen Gruppe ausgewählten Proteine spezifisch binden, auf dem Antikörper-Chip immobilisiert sein. Methoden zur Herstellung und Verwendung von Antikörper-Chips sind in Kreider BL, Med Res Rev 2000,20:212-215 beschrieben.

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können durch
20 Hybridisierung mit Oligonukleotiden, z.B. durch einen Northern blot bestimmt werden. Diese Oligonukleotide haben Sequenzen, die komplementär zu Teilsequenzen des zu detektierenden Genprodukts sind, und können z.B. mit einer chromogenen, radioaktiven oder fluoreszierenden Gruppe markiert sein. Vor der Hybridisierung kann die cDNA mit Hilfe der PCR amplifiziert werden (Sambrook, J. et al. 1989; Cold
25 Spring Harbor Laboratory Press).

Die Genprodukte mRNA bzw. die daraus abgeleitete cDNA können auch durch quantitative PCR (polymerase chain reaction) bestimmt werden.

Die mRNA kann auch durch *in situ* Hybridisierung mit antisense-RNA bestimmt werden. Dabei kann die antisense-RNA mit Dioxigenin, ^{32}P oder ^{33}P markiert sein.
30 Antisense Nukleinsäure ist eine DNA und/oder RNA, die komplementär zu einer mRNA ist. Sie kann die gesamte komplementäre Sequenz oder Teilsequenzen umfassen. Diese Methode ist dem Fachmann bekannt (Barlatti, S. et al. 1999; Histol. Histopathol. 14, 1231-1240).

Die Hybridisierung kann auch mit Hilfe eines DNA-Chips erfolgen. Die Erfindung
35 betrifft daher weiterhin einen DNA – Chip, auf dem mindestens ein Oligonukleotid immobilisiert ist, das der vollständigen cDNA-Sequenz oder einer Teilsequenz bzw.

- 5 komplementären Sequenz eines Genes ausgewählt aus der Gruppe, die in
Abbildung 1 beschrieben ist, entspricht. Die Erfindung betrifft somit ferner die
Verwendung eines erfindungsgemäßen DNA-Chips zur Diagnose von Endometriose.

DNA-Chips, auch als DNA-Mikroarrays bekannt, sind miniaturisierte Träger, meist
aus Glas oder Silizium, auf deren Oberfläche DNA-Moleküle bekannter Sequenz in
10 einem geordneten Raster in hoher Dichte immobilisiert werden. Die Oberflächen-
gebundenen DNA-Moleküle werden mit komplementären, eventuell markierten
Nukleinsäuren hybridisiert. Die Markierung kann ein Fluoreszenzfarbstoff sein.

Bei Oligonukleotid-Chips stellen die Oligonukleotide, die auf einem
erfindungsgemäßen DNA-Chip gebunden sein können, Teilsequenzen der
15 Genprodukte (mRNA bzw. daraus abgeleitete cDNA) in der Sense- oder Antisense-
Richtung dar. Es können ein oder mehrere Oligonukleotide pro Gen auf dem DNA-
Chip gebunden sein. Bevorzugt sind 25 Nukleotid-lange Oligonukleotide, die aus
dem nicht kodierenden Strang abgeleitet sind. Diese werden bevorzugt aus dem
jeweiligen 3'untranslatierten Ende des Gens ausgewählt. Zur Detektion können
20 Oligonukleotide von einem Gen, mehreren Genen oder allen Genen ausgewählt aus
der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe eingesetzt werden. Methoden zur
Herstellung und Verwendung von DNA-Chips sind z.B. in den US-Patenten Nr.
5,578,832; 5,556,752 und 5,510,270 beschrieben.

Bei cDNA Chips sind die vollständigen Genprodukte (cDNAs) oder Subfragmente
25 (200-500bp lang) auf dem Chip gebunden. Die Methode wird z. B. in Eckmann, L. et
al., J Biol Chem 2000, 275: 14084-14094 beschrieben.

Das Genprodukt mRNA kann auch durch chromogene Assays bestimmt werden.

5 Beschreibung der Abbildungen

Abb. 1 zeigt die Liste der Gene, die in der sekretorischen Phase bei Vorliegen einer Endometriose herunterreguliert sein können und damit für eine Diagnostik der Endometriose verwendet werden können. In Spalte 1 sind die Namen und die Datenbank-Nummer (Accession Numbers) der Gene aufgelistet, die bei der Analyse
 10 als differentiell reguliert gefunden wurden. In Spalte 2 findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase (sekr. Phase), jeweils *Endometriose* versus *Normal* (keine Endometriose); *down* bezeichnet den Zustand der Herunterregulation. Die erste Zahl in Klammern gibt an, wie oft das Gen als heraufreguliert und die zweite Zahl gibt an, wie oft das Gen als herunterreguliert gefunden wurde. Für diese
 15 Analyse wurden 20 Einzelvergleiche durchgeführt. In Spalte 3 findet sich der Vergleich von Proben aus der proliferativen Phase (prol. Phase). Für diese Analyse wurden 30 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *down* beschreibt den gleichen Zustand wie in Spalte 1, *nc* bedeutet *no correlation* (keine Korrelation), d.h. man findet dieses Gen sowohl herunter- als auch heraufreguliert. Die Bedeutung der
 20 Zahlen ist analog zu Spalte 2. In der vierten Spalte findet sich der Vergleich von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase. Hier wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose miteinander verglichen. Für diese Analyse wurden 25 Einzelvergleiche durchgeführt. Die Bezeichnung *up* beschreibt den Zustand der Heraufregulation. Die Bedeutung der Zahlen ist analog
 25 zu Spalte 2.

Abbildung 2 zeigt eine Liste der Polypeptide, die von den in Abbildung 1 dargestellten Genen kodiert werden und bei Vorliegen einer Endometriose vermindert exprimiert werden.

30 Beispiele

Die in den Beispielen verwendeten molekularbiologischen Methoden wie z.B. Isolierung von RNA, Sequenzierung von DNA, RNase Protection, Northern Blot Analyse, Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden nach Standardprotokollen, wie in
 35 bekannten Lehrbüchern wie z.B. in Molecular Cloning, A Laboratory Manual

- 5 (Sambrook, J. et al. 1989; Cold Spring Harbor Laboratory Press) beschrieben, durchgeführt. Methoden für Subtraktionsanalysen der Genexpression sind z.B. in Liang, P. und Pardee, A. B. 1995; Curr. Opin. Immunol. 7, 274-280 beschrieben.

Beispiel 1: Identifizierung von Endometriose-assoziierten Genen

- 10 Gene, die mit dem Krankheitsbild der Endometriose assoziiert sind, wurden durch Vergleich von Endometriumproben folgender Patientinnengruppen identifiziert:

1. Proliferative Phase: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, bei denen aufgrund von Leiomyomen eine Hysteroskopie oder Hysterektomie durchgeführt wurde.
- 15 2. Sekretorische Phase: Tage 15-28 nach der letzten Menstruation. Diese Gruppe setzte sich aus Patientinnen zusammen, wie unter 1. beschrieben.
3. Proliferative Phase plus Endometriose: Tage 4-14 nach der letzten Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.
4. Sekretorische Phase plus Endometriose: Tage 15-28 nach der letzten
20 Menstruation. Die Patientinnen dieser Gruppe litten an Endometriose.

Endometrium von Frauen mit Endometriose wurde mittels einer Strichcurettage gewonnen. Das Endometrium der Vergleichsgruppe wurde von Frauen im Rahmen einer Hysteroskopie oder einer Hysterektomie, die wegen eines Leiomyoms vorgenommen wurde, gewonnen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme in
25 flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Anschließend wurde Gesamt-RNA aus den Proben extrahiert. Diese RNA wurde amplifiziert, durch einen Fluoreszenzmarker markiert, und mit einem DNA-Chip (Human SL array der Firma Affymetrix, enthaltend Oligonukleotide für ca. 7000 humane Gene) hybridisiert. Nach dem Hybridisierungsverfahren wurde der DNA-Chip in einem Scanner analysiert. Die
30 Hybridisierungsmuster aller Gensequenzen, die sich auf dem Chip befinden, wurden zwischen allen Proben verglichen. Insgesamt wurden 20 Einzelvergleiche mit Proben aus der sekretorischen Phase und 30 Einzelvergleiche mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt bei denen jeweils eine Probe von einer Frau mit Endometriose stammte und eine Probe von einer Frau, die nicht an Endometriose litt.

- 5 Als differentiell reguliert betrachtet wurden alle diejenigen Gene, die in mindestens der Hälfte der Fälle (10 Vergleiche) um mindestens den Faktor 1.5 gegenüber der Kontrollgruppe (Proben von Frauen ohne Endometriose) herauf- oder herunterreguliert waren. Außerdem wurden 25 Einzelvergleiche von Proben aus der sekretorischen Phase mit Proben aus der proliferativen Phase durchgeführt. Hier
10 wurde Endometrium von Frauen ohne Endometriose verglichen.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die aufgelisteten Gene können als Differenzierungsmarker betrachtet werden. Ausgehend von der Betrachtung, daß die proliferative Phase, dem Namen entsprechend von proliferativen Prozessen dominiert wird, wird die sekretorische Phase eher als Differenzierungsphase
15 angesehen. Vor diesem Hintergrund sollten Gene, die für die Differenzierung von Bedeutung sind, während dieser Phase heraufreguliert werden (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 4) und während der proliferativen Phase herunterreguliert oder gleichbleibend reguliert sein (vergleiche mit Abbildung 1, Spalte 3). Die Gene, die in
20 Spalte 1 aufgelistet sind, erfüllen diese Kriterien und werden daher als Differenzierungsmarker bezeichnet. Dass diese Gene bei Frauen mit Endometriose herunterreguliert sind (Spalte 2), deutet auf eine gestörte Differenzierung in der sekretorischen Phase hin.

Beispiel 2: Diagnostik von Endometriose

25 1. Probengewinnung

- 26 Für die DNA-Chip-Analyse wird Endometriumgewebe aus Patientinnen gewonnen und Gesamt-RNA daraus isoliert. Die RNA wird dann amplifiziert und an einen Fluoreszenzmarker gekoppelt. Für den Immunttest kann Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret, Urin oder Endometriumgewebe von der Patientin gewonnen werden.

30 2. Detektion der Genprodukte

2a. mit Hilfe eines DNA-Chips

Zuerst werden die geeigneten DNA-Sequenzen aus den Genen, die aus der in Abbildung 1 beschriebenen Gruppe ausgewählt werden, bestimmt. Geeignet sind Sequenzen, die mit den ausgewählten Gentranskripten hybridisieren können. Die

- 5 Oligonukleotide werden dann durch einen chemischen Prozess, der auf photolithographischen Verfahren basiert, auf dem Chip hergestellt. Dazu werden photolithographische Masken verwendet, die durch geeignete Computer-Algorithmen erzeugt wurden.

Die markierte RNA wird mit dem Chip in einem Hybridisierungssofen inkubiert.

- 10 Anschliessend wird der Chip in einem Scanner analysiert, der die Hybridisierungsprofile bestimmt. Dadurch kann festgestellt werden, ob in der sekretorischen Phase eines oder mehrere der Gene der in Abbildung 1 aufgelisteten Gene runterreguliert ist, was auf eine Endometriose hinweist.

2b. durch Immuntest

- 15 Für die Durchführung eines Immuntestes benötigt man spezifische Antikörper, die an die in Abbildung 2 beschriebenen Polypeptide binden. Die Antikörper können mono- oder polyklonale Antikörper sein, die gegen die aufgereinigten Proteine, Peptide, ausgewählt aus den kodierten Proteinen, oder rekombinant hergestellte Fragmente oder Gesamtprotein gerichtet sind.

- 20 Erfolgt die Analyse mittels Immunohistochemie verwendet man Endometrium, das der zu analysierenden Patientin entnommen wurde. Nach geeigneter Fixierung des Gewebes, z.B. mittels Formaldehyd und anschließender Einbettung in Paraffin kann das Gewebe für die immunhistochemische Analyse verwendet werden. Dazu werden von dem fixierten und eingebetteten Gewebe mit einem Mikrotom Schnitte
- 25 geeigneter Dicke, z.B. 4 μm , angefertigt. Der oder die spezifischen Antikörper werden dann mit den weiter vorbereiteten Gewebeschnitten (z.B. Deparaffinierung, Blocken) eine Zeitlang unter geeigneten Temperaturbedingungen, z.B. 1h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Waschschritten mit einer geeigneten Lösung, z.B. PBS, werden die Schnitte in einem 2. Schritt mit einem geeigneten zweiten Antikörper
- 30 inkubiert, der für die nachfolgenden Reaktionen, z.B. biotiniliert ist. Der 2. Antikörper bindet an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antiköpers. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem dritten Schritt die Gewebeprobe z.B. mit Horse-Redish Peroxidase, gekoppelt an Streptavidin, inkubiert. Nach geeigneter Inkubationszeit und Waschschritten wird nun in einem
- 35 letzten Schritt durch Zugabe eines geeigneten Farbstoffs, z.B. DAB, von der Peroxidase eine Enzymreaktion katalysiert, die zu einer Farbreaktion dort führt, wo

immunosorbent assay) wird der
 polymere Trägermatrix, z.B.
 man den oder die fixierten
 itonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-
 Waschvorgängen wird in einem
 einer anderen Stelle des zu
 ikörper trägt zusätzlich noch ein
 e. Dieses Enzym katalysiert nun
 ines farblosen Substrats in ein
 uoreszierendes Substrat in ein
 Die Menge des farbigen oder
 ssen werden. Da die Menge des
 en des Antigens proportional ist,
 s oder Fluoreszenzproduktes für
 Extrakt vorhandenen Polypeptide

5 der 1. Antikörper spezifisch gebunden hat. Nach Abstoppen der Enzymreaktion und
 Waschschritten kann der Gewebeschnitt nun getrocknet, fixiert und mit einem
 Deckgläschen versehen, unter dem Mikroskop analysiert werden. Um zu
 entscheiden, ob in der Gewebeprobe ein quantitativer oder auch qualitativer
 Unterschied besteht, muß eine entsprechende Kontrolle einer Probe von einer Frau
 10 ohne Endometriose als Vergleich herangezogen werden.

Erfolgt die Analyse mittels Westernblot werden die gewonnenen Gewebeproben oder
 Extrakte aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin mittels einer
 Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Nach der Auftrennung werden die in
 dem Gel aufgetrennten Polypeptide durch Anlegen eines elektrischen Stroms auf
 15 eine geeignete Trägermembran, z.B. Nitrozellulose, überführt. Die auf der
 Trägermembran fixierten Proteine werden nun in einem 1. Schritt mit dem oder den
 spezifischen Antikörpern inkubiert. Nach geeigneten Waschvorgängen, z.B. mit
 TBS/TBST, wird die Trägermembran in einem 2. Schritt mit einem 2. Antikörper
 inkubiert, der an die für die jeweilige Spezies konstante Region des 1. Antikörpers
 20 bindet. Der 2. Antikörper kann eine radioaktive Markierung tragen oder ein
 gekoppeltes Enzym, z.B. alkalische Phosphatase, die in einer nachfolgenden
 Farbreaktion ein farbloses Substrat in ein farbiges Substrat umwandelt. Da die
 Menge des an dem Antigen gebundenen des 2. Antikörpers derjenigen des Antigens
 proportional ist, kann daher die Menge des gemessenen Farbstoffs für eine
 25 quantitative Analyse des oder der in dem Extrakt vorhandenen Polypeptide genutzt
 werden.

Erfolgt die Analyse mittels eines Festphasenimmunoassays wird der oder die
 spezifischen Antikörper an eine polymere Trägermatrix, z.B. Polyvinylchlorid,
 gebunden. Anschließend inkubiert man den oder die fixierten Antikörper mit dem
 30 Extrakt, der aus z.B. aus der Peritonealflüssigkeit, Blut, Vaginal-Sekret oder Urin
 gewonnen wurde. Nach geeigneten Waschvorgängen wird in einem 2. Schritt ein 2.
 Antikörper hinzugegeben, der an einer anderen Stelle des zu detektierenden
 Antigens spezifisch bindet. Der 2. Antikörper trägt z.B. eine radioaktive oder
 Fluoreszenzmarkierung und kann daher in einem 3. Schritt hochempfindlich
 35 nachgewiesen werden. Die an dem Antigen gebundene Menge des 2. Antikörpers ist
 derjenigen des Antigens proportional und kann daher für eine quantitative Analyse
 des oder der in dem Extrakt vorhandenen Proteine genutzt werden.

5 Ansprüche

1. Methode zur in vitro Diagnose von Endometriose, dadurch gekennzeichnet, daß die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird und mit der Menge an diesem Genprodukt in einer Kontrollprobe verglichen wird, wobei eine geringere Menge an diesem Genprodukt auf das Vorliegen einer Endometriose hinweist.

2. Verwendung von Antikörpern gegen ein oder mehrere Proteine kodiert von Genen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder gegen Teile des Polypeptids oder der Proteine zur Diagnose von Endometriose.

3. DNA – Chip, dadurch gekennzeichnet, daß auf dem Chip mindestens ein Oligonukleotid, das eine Teilsequenz einer DNA ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon oder deren komplementären Sequenz umfaßt, gebunden ist.

4. Verwendung eines DNA-Chips nach Anspruch 3 zur Diagnose von Endometriose.

5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Diagnose von Endometriose wobei die Menge an Genprodukt von mindestens einem Gen aus der Gruppe bestehend aus Fibronectin, Insulin-like growth factor binding protein-2, Transmembrane receptor PTK7, Platelet-derived growth factor receptor alpha, Collagen type XVIII alpha 1, 10 Subtilisin-like protein (PACE4), Laminin M chain (Merosin), Elastin, Collagen type IV alpha 2, p27 interferon alpha-inducible gene, Reticulocalbin, Aldehyde Dehydrogenase 6, Gravin, Nidogen und Phospholipase C Epsilon in einer Patientinnenprobe bestimmt wird.

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
X02761, fibronectin (FN precursor)	down (0 up - 16 down)	down (4 up -12 down)	up (18 up - 1 down)
S37730, insulin-like growth factor binding protein-2	down (1-15)	nc (13-13)	up (17-2)
U40271, Human transmembrane receptor precursor (PTK7)	down (0-14)	nc (6-2)	up (9-1)
M21574, platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA)	down (0-13)	nc (8-10)	up (17-0)
L22548, collagen type XVIII alpha 1 (COL18A1)	down (0-13)	down (0-8)	up (17-0)
M80482, subtilisin-like protein (PACE4)	down (1-13)	down (4-13)	up (22-2)
Z26653, laminin M chain (merosin)	down (1-13)	nc (9-10)	up (17-1)
M36860, U77846, Elastin	down (0-12)	nc (0-0)	up (25-0)
X05610, type IV collagen alpha -2 chain	down (0-12)	nc (3-3)	up (11-0)
X67325, p27 interferon alpha-inducible gene	down (1-12)	nc (9-10)	up (10-2)

Abbildung 1

Datenbank-Nr., Name	Vergleich Endometriose versus Normal (sekr. Phase)	Vergleich Endometriose versus Normal (prol. Phase)	Vergleich sekr. versus prol. Phase (Endometrium)
D42073, reticulocalbin	down (0-11)	nc (8-5)	up (11-2)
U07919, aldehyde dehydrogenase 6	down (1-11)	nc (13-9)	up (22-0)
U81607, gravin	down (1-11)	nc (8-7)	up (18-1)
M30269, nidogen	down (0-10)	nc (8-14)	up (15-3)
D42108, phospholipase C Epsilon	down (1-10)	nc (12-14)	up (25-0)

Abbildung 1

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
1	Fibronektin	<p>MLRGPGLL LLAVQCLGTA VPSTGASKK RQAQMVQPQ SPVAVSQSKP GCYDNGKHYQ INQWERTYL</p> <p>GNALVCTCYG GSRGNCECK PEAEETCFDK YTGNTYRVGD TYERPCKSMI WDCTCIGAGR GRISCTIANR</p> <p>CHEGGQSYKI GDTWRRPHET GGYMLECVCL GNGKGEWTK PIAEKCFDHA AGTSYVVGET WEKPYQGMM</p> <p>VDCTCLGEGS GRITCTSRNR CNDQDTRTSY RIGDTSKKD NRGNLLQCIC TNGRGEWKC ERHTSVQTTS</p> <p>SGSGPFTDVR AAVYQPPHP QPPPYGHCVT DSGVVVSVGM QWLKTQGNKQ MLCTCLNGV SCQETAVTQT</p> <p>YGGNSNGEPC VLPFTYNGRT FYSCCTEGRQ DGHLCSTTS NYEQDQKYSF CTDHTVLVQT QGGNSNGALC</p> <p>HFPFLYNNHN YTDCTSEGRR DNMKWCGTTQ NYDADQKFGF CPMAAHEEIC TTNEGVMYRI GDQWDKQHDM</p> <p>GMMRCTCVG NGRGEWTCIA YSQLRDQCIY DDITYNVNDT FHKRHEEGHM LNCTCFGQGR GRWKCDPVDQ</p> <p>QDSETGTFY QIGDSWEKYV HGVRYQCYCY GRGIGEWHCQ PLQTYPSSSG PVEVFITETP SQPNSHPIQW</p> <p>NAPQSHISK YILRWRPKNS VGRWKEATIP GHLSYTIKG LKPGVVYEGQ LISIQQYGHQ EVTRFDFTTT</p> <p>STSTPVTSTNT VTGETTTPFSP LVATSESVTE ITASSFVVSF VSASDTVSGF RVEYELSEEG DEPOYLDLPS</p> <p>TATSVNIPDL LPGRKYIVNV YQISEDGEQS LILSTSQTTA PDAPPDPTVD QVDDTSIVVR WSRPQAPITG</p> <p>YRIVYSPSVE GSSTELNLPE TANSVTLSDL QPGVQYNITI YAVEENQEST PVVIQQUETT TPRSDTVPS</p> <p>RDLQFVEVTD VKVTIMWTPP ESAVTGYRVD VIPVNLPGEH GQRLPISRNT FAEVTGLSPG VTYVFKVFAV</p> <p>SHGRESKPLT AQOTTCLKDAP TNLQFVNETD TNLQFVNETD STVLVRWTPP RAQITGYRLT VGLTRRGQPR QYNVGPSVSK</p> <p>YPLRNLQPAS EYTVSLVAIK GNQESPKATG VFTTLQPGSS IPPYNTTEVTE TTIVITWTPA PRIGFKLGVR</p> <p>PSQGGEAPRE VTSDSGSIVV SGLTPGVEYV YTIQVLRDQ YTIQVLRDQ ERDAPVNVK VTPLSPPTNL HLEANPDTGV</p> <p>LTVSWERSTT PDITGYRITT TPTNGQQGNS LEEVVHADQS SCTFDNLSPG LEYNVSVTV KDDKESVPIS</p> <p>DTIIPAVPPP TDLRFTNIGP DTMRTWAPP PSIDLTNFLV RYSPVKNEED VAELSISPSD NAVVLTNLLP</p> <p>GTEYVSVSVSS VYEQHESTPL RGRQKTGLDS PTGIDFSDIT ANSFVHWIA PRATITGYRI RHHPEHFSGR</p> <p>PREDRVPHSR NSITLTNLTP GTEYVVSVIVA LNGREESPLL IGQQSTVSDV PRDLEVVAAT PTSLLISWDA</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		PAVTVRYRI TYGETGNSP VQFTVPGSK STATISGLKP GVDYITITVYA VTGRGDSPAS SKPISINVRT EIDKPSQMOV TDVQDNSISV KWLPS SSPVT GYRVTTTPKN GPGPTTKTKTA GPDQTEMTIE GLQPTVEYV SVYAQNPSGE SQPLVQTAVT NIDRPKGLAF TDVDVDSIKI AWESPQGQVS RYRVITYSSPE DGIHELFFAP DGEEDTAELO GLRPGSEYTV SVVALHDDME SQPLIGTQST AIPAPTDLKF TQVTPTSLSA QWTPPNVQLT GYRVRVTPKE KTGPMKEINL APDSSSVVVS GLMVATKYEY SVVALKDTLT SRPAQGVVTT LENVSPPRRA RVTDATEITI TISWRKTET ITGFQVDAVP ANGQTPIQRT IKPDVRSYTI TGLQPGTDYK IYLYTLNDNA RSSPVVIDAS TAIDAPSNLR FLATTPNSLL VSWQPPRARI TGYIIKYEKP GSPPREVVPR PRPGVTEATI TGLEPGTEYT IYVIALKNNQ KSEPLIGRKK TDELPLQVTL PHPNLHGPEI LDVPSTVQKT PFVTHPGYDT GNIGLPGTS GQPSVGGQM IFEEHGFRRIT TPPTTATPIR HRPRYPNNV GEEIQIGHIP REDVDYHLYP HGPGLNPNAS TGEALSQTT ISWAPFQDTS EYIISCHPVG TDEEPLQFRV PGTSTSATLT GLTRGATYNI IVEALKDQQR HKVREEVVTV GNSVNEGLNQ PTDDSCFDPI TVSHYAVGDE WERMSESGFK LLCQCLGFGS GHFRCDSSRW CHDNGVNYKI GEKWDROGEN GQMMSCCLG NGKGEFKCDP HEATCYDDGK TYHVGEQWQK EYLGAICSCT CFGGQRGWRC DNCRRPGGEP SPEGTTGQSY NQYSQRYHOR TNTNVNCPIC CFMPLDVQAD REDSRE
2	Insulin-like growth factor binding protein-2	MLPRVGC PAL PLPPPPPLPL LPLLLLLLGA SGGGGGARAE VLFRCPPTP ERLAACGPPP VAPPAVAAV AGGARMPCAE LVREPGCGCC SVCARLEGEA CGVYTPRCGQ GLRCYPHPGS ELPLQALVMG EGTCEKRDA EYGASPEQVA DNGDDHSEGG LVENHVDSTM NMLGGGSAG RKPLKSGMKE LAVFREKYTE QHRQMGKGGK HHLGLEPKK LRPPPARTPC QQELDQVLER ISTMRPLDER GPLEHLYSLH IPNCDKHGLY NLKQCKMSLN GQGEWCVN PNTGKLIQGA PTIRGDPECH LFYNEQGEAR GVHTQRMQ

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
3	Transmembrane receptor PTK7	MGAARGSPAR PRRLPLLSVL LLPLLGTTQT AIVFIKQPSS QDALQRRAL LRCEVEAPGP VHVVWLLDGA PVQDTERRFA QGSSLSFAAV DPLQDSGTFQ CVARDDVTGE EARSANASFN IKWIEAGPVV LKHPASEAEI QPQTQVKLRC HIDGHPRTY QWFRDGTPLS DGQSNHTVSS KERNLTLRPA GPEHSGLYSC CAHSAFSQAC SSQNFTLSIA DESFARVULA PQDVVVARYE EAMFHCQFSA QPPPSLQWLF EDETPITNRS RPPHLRRATV FANGSLLLTQ VRPRNAGIYR CIGQGQRGPP IILEATLHLA EIEDMPLFEP RVFTAGSEER VTCLPPKGLP EPSVWWEHAG VRLPTHGRVY QKGHELVLAN IAESDAGVYT CHAANLAGQR RQDVNITVAT VPSWLKKPQD SOLEEGKPGY LDCLTQATPK PTVVWYRNQM LISEDSRFEV FKNGTLRINS VEVDGTWYR CMSSTPAGSI EAQAVLQVLE KLKFTPPPPQ QQCMGFDEKA TVPCSATGRE KPTIKWERAD GSSLPEWVTD NAGTLHFARV TRDDAGNYTC IASNGPQGQI RAHVQLTVAV FITFKVEPER TTVYQGHATL LQCEAQGDPK PLIQWKGKDR ILDPTKLGRP MHIFQNGSLV IHDVAPEDSG RYTCIAGNSC NIKHTEAPLY VVDKVPPEES EGPSPPPYK MIQTIGLSVG AAVAYIIAVL GLMFYCKKRC KAKRLQKQPE GEEPEMECLN GGPLQNGQPS AEIQEEVALT SLGSGPAATN KRHSTDGMH FPRSSLQPI TILGKSEFGEV FLAKAQGLEE GVAETLVLVK SLQSKDEQQQ LDFRRELEMF GKLNHANVVR LLGLCREAEP HYMVLEYVDL EDLKQFLRIS KSKDEKLKSQ PLSTKQKVAL CTQVALGMEH LSNNRFVHKD LAARNCLVSA QRQVKVSALG LSKDVYNSEY YHFRQAWVAL RWMSPPEAILE GDFSTKSDVW ASGVLMWEVF THGEMPHGGQ ADDEVVLADLQ AGKARLPQPE GCPSKLYRLM QRCWALS PKD RPSFSEIASA LGDSTVD SKP
4	Platelet-derived growth factor receptor alpha	MGTSHPAFLV LGCLLTGLSL ILCQLSLPSI LPNENEKVQ LNSSFSLRCF GESEVSWQYP MSEEESDVE IRNEENNSGL FVTIVLEVSSA SAAHTGLYTC YYNHTQTEEN ELEGRHIYIY VPDPDVAFVP LGMTDYLIV EDDDSAIIPC RTTDPETPVT LHNSEGVVPA SYDSRQGFNG TFTVGPYICE ATVKGKKFQT IPFNVYALKA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p> TSELDLEMEA LKTVYKSGET IVVTCVFNNEVVDLQWTYP GEVKGKGITM LEEIKVPSIK LVYTLTVPEA TVKDSGDYEC AARQATREVK EMKKVTISVH EKGFEIKPT FSQLEAVNLH EVKHFVVEVR AYPPPRISWL KNNLTLIENL TEITTDVEKI QEIRYRSKLK LIRAKEEDSG HYTIVAQNEDEVKSYTFELL TQVPSSILDL VDDHHGSTGG QTVRCTAEGT PLPDIEWMIC KDIKKCNNET SWTILANNVS NIITEIHSRD RSTVEGRVTF AKVEETIAVR CLAKNLLGAE NRELKLVAPT LRSELTVAAGVIVLLVIVII SLIVLVVIWK QKPRYEIRWR VIESISPDGH EYIYVDPMQL PYDSRWEFPR DGLVLGRVLG SGAFGKVVEG TAYGLSRSQ VMKVAVKMLK PTARSEKQA LMSELKIMTH LGPHLNIIVNL LGACTKSGPI YIITEYCFYG DLVNYLHKNR DSFLSHHPEK PKKELDIFGL NPADESTRSY VILSFENNGD YMDMKQADTT QYVPMLEKE VSKYSIDIQRS LYDRPASYKK KSMLDSEVKN LLSDDNSEGL TLLDLLSFTY QVARGMEFLA SKNCVHRDLA ARNVLLAQCK IVKICDFGLA RDIHDSNYV SKGSTFLPVK WMAPESIFDN LYTTLSDVWS YGILLWEIFS LGGTPYPGMM VDSTFYNNKIK SGYRMAKPDH ATSEVYEIMV KCWNSEPEKR PSFYHLSEIV ENLLPCQYKK SYEKIHLDFL KSDHPAVARMVDSNDAYIG VTYKNEEDKL KDWEGLDEQ RLSADSGYII PLPDIDPVPE EEDLGKRNH SSQTSEESAI ETGSSSSTFI KREDETIEDI DMDDDIGIDS SDLVEDSFL </p>
5	Collagen xVIII alpha 1	<p> type GEVGADGIPG FPGLPGREGI AGPQGPKGDR GSRGEKGDPG KDGLGQPLP GPRGPPGPV YVSEQDGSVL SVPGEGRRG FAGPPGPAGP KGNLGSKGEL GSPGPKGKG EPGSIFSPDG GALGPAQKGA KGEPPGFRGPP GLYGRPGYKG EIGFPGRPGR PGMNGLKGEK GEPGDASLGF GMRGMPGPPG PPGPPGPPGT PVYDSNVFAE SSRPGPPGLP GNQPPGPKG PKGEVGPVGP PGQFPDFLQ KEAEMKGEK DRGDAGQKE RGEPPGGGFF GSSLPGAPGA PGPRGYPGIP GPKGESIRGQ PGPPGQGP GIGYEGRQGP PGPPGPPGPP SFPGPHRQTI SVPGPPGPPG PPGPPGTMGA SSGQVRLWAT RQAMLGVHE VPEGWLIFVA EQEELYVRVQ NGFRKVQLEA RTPLPRGTDN EVAALQPPVV QLHDSNFPYR REHPHTARP WRADDILASP PGLPEPQYP GGPHHSSVH CGPARPTSPP AHSHRDFQPV LHLVALNSPL SSGMRGIRGA DFQCQOARA VGLAGTFAF LSSRLQDLYS </p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
6	Subtilisin-like protein (PACE4)	<p>IVRRADRAAV PIVNLKDELL FPSWEALFSG SEGPLKPGAR IFSFDGKDLV RHPTWPQKSV WHGSDPNRR</p> <p>LTESYCETWR TEAPSATGQA SSLLGRLG QSAASCHAY IVLCIENEFM TASK</p> <p>MPPRAPAPG PRPPPRAAAA TDTAAGAGGA GGAGGAGPG FRPLAPRPWR WLLLLALPAA CSAPPPRPVY</p> <p>TNHWAVQVLG GPAEADRVAA AHGYLNLGQI GNLEDYHYFY HSKTFKRSTL SSRGPHFTFLR MDPQVKWLQQ</p> <p>QEVKRRVKRQ VRSDPQALYF NDPIWSNMWY LHCQKNSRC RSEMNVAQAW KRGYTGKNVV VTILDDGIER</p> <p>NHPDLAPNYD SYASYDVNGN DYDPSPRYDA SNENKHGTRC AGEVAASANN SYCIVGIAYN AKIGGIRMLD</p> <p>GDVTDVVEAK SLGIRPNYID IYSASWGPDD DGKIVDGPGR LAKQAFEYGI KKGRQGLGSI FVWASGNGGR</p> <p>EGDYCSCDGY TNSIYTISVS SATENGYKPV YLEECASITLA TTYSSGAFYE RKIVTTDLRQ RCTDGHGTGS</p> <p>VSAPMVAGII ALALEANSQI TWRDVQHLV KTSRPAHLKA SDWKVNGAGH KVSHFYGFGL VDAEALVVEA</p> <p>KKWTAVPSQH MCVAASDKRP RSIPLVQVLR TTALTSACAE HSDQRVVYLE HVVVRTSISH PRGDLQIYL</p> <p>VSPSGTKSQL LAKRLDLSN EGFTNWEFMT VHCWGEKAEG QWTLQIQLP SQVRNPEKQG KIKEWSLILY</p> <p>GTAEHPIYTF SAHQSRSRML ELSAPELEPP KAALSPSQVE VPDEEDDYTA QSTPGSANIL QTSVCHPECG</p> <p>DKGCDGPNAD QCLNCVHFSI GSVKTSRKCVC SVCPLGYFGD TAARRCRRCH KGCETCSSRA ATQCLSCRRG</p> <p>FYHHQEMNTC VTLCPPAGFYA DESQKNCLKC HPSCKKCVDE PEKCTVCKEG FSLARGSCIP DCEPGTYFDS</p> <p>ELIRCGECHH TCGTCVGPGR EECIHCAKNF HFHDWKCVPA CGEGFYPEEM PGLPHKVCRR CDENCLSCAG</p> <p>SSRNCRCRKT GFTQLGTSCI TNHTCSNADE TFCEMVKSNR LCERKLFIQF CCRTCLLAG</p>
7	Laminin M chain (Merosin)	<p>MPGAAGVLLL LLLSGGLGV QAQRPQQRQ SQAHQQRGLF PAVNLASNA LITTNATCGE KGPEMYCKLV</p> <p>EHVPGQPVNR PQCRICNQNS SNPNQRHPIT NAIDGKNTWW QSPSIKNGIE YHYVTITLTL QQVFQIAYVI</p> <p>VKAANSRPRG NWILERSLDD VEYKPWQYHA VTDTECLTLY NIYPRTGPPS YAKDDEVICT SFYSKIHPLE</p> <p>NGEIHISLIN GRPSADDPSP ELLEFTSARY IRLRFQIRI LNADLMMFAH KDPREIDPIV TRRYIYSVKD</p> <p>ISVGGMCICY GHARACPLDP ATNKSRCCE HNTCGDSCDQ CCPGFHQKPW RAGTFLTKTE CEACNCHGKA</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		BECYDENVA RRNLSLNIRG KYIGGGVCIN CTQNTAGINC ETCTDGFRRP KGVSPNYRPP CQPCHCDPIG SILNEVCVKDE KHARRGLAPG SCHCKTGFEG VSCDRRCARGY TGYPDCKACN CSGLGSKNED PCFGPCICKE NVEGGDCSRC KSGFFNLQED NWKGCDECFC SGVSNRCQSS YWTYKIQDM SGWYLTDLPG RIRVAPQDD LDSPQQISIS NAEARQALPH SYWSAPAPY LGNKLPAVGG QLTFITISYDL EEEEEEDTERV LQLMILEGN DLSISTAQDE VYLHPSEEHT NVLLKEESF TIHGTHFPVR RKEFWTVLAN LKRVLLQITY SFGMDAIFRL SSVNLESAYS YPTDGSIAAA VEVQCQPPGY TGSSCESCW P RHRVNGTIF GGICEPCQCF GHAESCDDVT GECLNCKDHT GGPYCDKCLP GFYGEPTKGT SEDCQPCACP LNIPSNFSP TCHLDRSLGL ICDGCPVGYT GPRCERCAEG YFGQPSVPGG SCQPCQCNND LDFSIPGSCD SLGSCCLICK PGTTGRYCEL CADGYFGDAV DAKNCQPCRC NAGGSFSEVC HSQTGQCECR ANVQQRCDK CKAGTFGLQS ARGCVPCNCN SFGSKSFDC ESGQCWCQPG VTGKKCDRCA HGYENFQEGG CTACECSHLG NNCDPKTGRC ICPNTTIGEK CSKCAPNTWG HSITTGCKAC NCSTVGSILDF QCNVNTGQCN CHPKFSGAKC TECSRGHWNV PRCNLCDCFL PGTDATTCDS ETKKSCSDQ TGQCTCKVNV EGIHCDRCRP GKFLDAKNP LGSSCYCFG TTTQCSEAKG LIRTWVTLKA EQTILPLVDE ALQHTTTKGI VFQHPDIVAH MDLMREDLHL EPFYWKLPEQ FEGKKLMAYG GKLYAIYFE ARBETGFSTY NPQVIIRGGT PTHARILVRH MAAPLIGQLT RHEIEMTEKE WKYYGDDPRV HRTVTREDFL DILYDIHYIL IKATYGNFMR QSRISEISME VAEQGRGTTM TPPADLIEKC DCPLGYSGLS CEACLPGFYR LRSQPGGRTP GPTLGTVCPC QCNGHSSLCD PETSICQNCQ HHTAGDFCER CALGYYGIVK GLPNDCCQCA CPLISSNNF SPSCVAEGLD DYRCTACPRG YEGQYCERCA PGYTGSPGNP GGSCQCECED PYGSLPVPCD PVTGFCTCRP GATGRKCDGC KHWHAREGWE CVFCGDECTG LLLGLDLARLE QMVMSINLTG PLPAPYKMLY GLENMTQELK HLLSPQRAPE RLIQLAEGNL NTLVTEMNEL LTRATKVTAD GEQTGQDAER TNTRAKSLGE FIKELARDAE AVNEKAIKLN ETLGTRDEAF ERNLEGLQKE IDQMIKELRR KNLETQKEIA EDELVAEAL LKKVKKLFGE SRGENEEMEK DLREKLADYK NKVDDAWDLL REATDKIREA NRLFAVNQKN MTALEKKKEA VESGKRQIEN TLKEGNDILD EANRLADEIN SIIDYVEDIQ TKLPPMSEEL NDKIDDLQSE IKDRKLAEKV

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		SQAESHAAQL NDSSAVLDGI LDEAKNISFN ATAFAKAYSN IKDYIDEAEK VAKEAKDLAH EATKLATGPR GLLKEDAKGC LQKSFRIILNE AKKLANDVKE NEDHLNGLKT RIENADARNG DLLRLTNDTL GKLSAIPNDT AAKLQAVKDK ARQANDTAKD VLAQITELHQ NLDGLKKNYN KLADSVAKTN AVVKDPSKNK IADADATVK NLEQEAADRLI DKLKPIKELE DNLKKNISEI KELINQARKQ ANSIKVSUSS GGDCIRTYKP EIKKGSYNNI VVNVKTAVAD NLLFYLGS AK FIDFLAIEMR KGVSVFLWDV GSGVGRVEYP DLTIDDSYWY RIVASRTGRN GTISVRALDG PKASIVPSTH HSTSPPGYTI LDVDANAMLF VGGLTGKLKK ADAVRVITFT GCMGETYFDN KPIGLWNFRE KEGDCKGCTV SPQVEDSEGT ATRDLRDFMS VELTDGHIKV SYDLGSGMAS VVSQNHNNDG KWKSFTLSRI QKQANISIVD IDTNQENIA TSSSGNNFGL DLKADDDKIYF GGLPTLRNLS MKARPEVNLK KYSGLKDIE ISRTPYNILS SPDYGVTKG CSLENVYTVS FPKPGFVELS PVPIDVGTEI NLSFSTKNES GIILLGSGGT PAPRRKRKRRQ TGQAYYVILL NRGRLVHLS TGARTMRKIV IRPEPNLFHD GREHSHVHER TRGIFTVQVD ENRRYMQNLT VEQPIEVKKL FVGGAPEFQ PSPLRNIPPF EGCINLNVIN SVPMDFARPV SPKNADIGRC AHQKLREDED GAAPAEIVIQ PEPVPTPAFF TPTPVLTHGP CAAESEPALI IGSKQFGLSR NSHIAIAFDD TKVKNRLTIE LEVRTEAESG LLYFYMAAINH ADFATVQLRN GLPYFSYDLG SGDTHTMIPT KINDGQWHKI KIMRSKQEGI LYVDGASNRT ISPKKADILD VVGMLYVGGI PINYTTTRRIG PVTYSIDGCV RNLHMAEAPA DLEQPTSSFH VGTCFANAQR GTYFDGTGFA KAVGGFKVGL DLLVEFEFAT TTTTGVLGLI SSQKMDGMI EMIDEKLMFH VDNAGRFTA VYDAGVPGLH CDGQWHKVTI NKIKHRIELT VDGNOVEAQS PNPASTSADT NDPVFVGGFP DDLKQFGLTT SIPFRGCIRS LKLTGKTASH WRLILPRPWN
8	Elastin	MAGLTAAAPR PGVLLLLLSI LHPSPGGVP GAIPGGVPGG VFYPGAGLGA LGGALGPGG KPLKVPVGGI AGAGLGAGLG AFPVTFPGA LVPGGVADAA AAYKAAKAGA GLGGVPGVGG LGVSAGAVVP QPGAGVKPGK VPGVGLPGVY PGGVLPGARF PGVGLPGVP TGAGVVKPKAP GVGGAFAGIP GVGPFGGPQPV GVPGLGYPIKA PKLPGGYGLP YTTGKLPGY GPGGVAGAAG KAGYPTGTGV GPQAAAAAAA KAAAKFGAGA AGVLPGVGGA

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
9	Alpha-2 type IV collagen	<p> GVPGVGAIP GIGGIAGVGT PAAAAAATAA AKAAYGAAA GLVPGGPGFG PGVGVGPGAG VPGVGVPGAG IPVVPGAGIP GAAVPGVVSP EAAAKAAAKA KYGARPGVG VGGIPTYGVG AGGPPGFGVG VGGIPGVAGV PSVGGVPGVG GVPVGVISPE AQAAAAAKAA KYGVGTPTAA AAKAAAKAAQ FALLNLGLV PGVGVAPGVG VAPGVGVAPG VGLAPGVGVA PGVGVAPGVG VAPGIGPGGV AAAAKSAKV AKAQLRAAA GLGAGIPGLG VGVGVPGLV GAGVPGLVG AGVPGFGAVP GALAAAKAAK YGAAVPGVIG GLGALGGVI PGGVVGAGPA AAAAAAKAAA KAAQFGLVGA AGLGGLGVGG LGVPGVGGIG GIPPAATAKA AKYGAAGLGG VLGAGGQFPL GGVAARPGFG LSPIFPGGAC LGKACGRKRK </p> <p> MGRDQRAVAG PALRRWLLG TVTVGFLAQS VLAGVKKFDV PCGRDCSGG CQCYPEKGR GQPGVPVPGQ YNGPPGLQGF PGLQGRKGDK GERGAPGVTG PKGDVGARGV SCFPGADGIP GHPGQGGPRG RPYDGCNGT QGDSGPQPPP GSEGFTGPPG PQGPKGQKGE PYALPKEERD RYRGEPPGPG LVGFQGGPRG PGHVGMQGPV GAPRPGPPG PPGPKGQQGN RGLGFYGVKG EKGDVGQGP NGIPSDTLHP IIAPTGVTFH PDQYKGEKGS EGEPIRGIS LKGEEGIMGF PGLRGYPGLS GEKGSPPQKG SRGLDGYQGP DGPRGPKGEA GDPGPPGLPA YSPHPSLAKG ARGDPGFPGA QGEPSQGEF GPPGLPGPPG LSIGDGDQRR GLPGEMGPKG FIGDPGIPAL YGGPPGPDGK RGPPGPPGLP GPPGPDGFLF GLKGAKEGAG PPGLPGSPA RGPKGWKGDA GECECTEGDE AIKGLPGLPG PKGFAGINGE PGRKGDGDP GQHGLPGFPG LKGVPGNIGA PGPKGAKGDS RTITTKGERG QPGVPVPGM KGDDGSPGRD GLDGFPPGLP PPGDGIGKPP GDPGYPGIPG TKGTPGEMGP PGLGLPGLKG QRGFPDAGL PGPPGFLGPP GPAGTPGQID CDTDVKRAVG GDRQEAIQPG CIAGPKGLPG LPGPFPGTGA KGLRGIPGFA GADGGPGRG LPGDAGREGF PGPPGFTGPR GSKGAVGLPG PDGSPGPIGL PGPDGPPGER GLPGEVLGAQ PGPRGDAGVP GQGLKGLPG DRGPPGFRGS QGMGMPGLK GQGLPGPSG QPGLYPPPL HGFPGAPQE GPLGLPIPG REGLPGDRGD PGDTGAPGV GMKGLSGDRG DAGFTGEQGH PGSPGFKGID GMPGTPGLKG DRGSPGMDGF QGMPLKGRP GFPGSKGAG FFGIPGLKGL AGEPPGKGR GDPGPPGPPP </p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VILPGMKDIK GEKDEGPMG LKGYLGAKGI QGMPCIPGLS GIPGLPGRP GIPGLVKGDIG VPGIPGLPGF PGVAGPPGII GFPGFIGSRG DKGAPGRAGL YGEIGATGDF GDIGDTINLP GRPGLKGERG TTGIPGLKGF FGEKGTEGDI GFPGITGVG VQPPPGGLKGQ TGFPGLTGPP GSQELGRIG LPPGKGDDGW PGAPGLPGFP GLRGIRGLHG LPCTKGFP GS DIIHGDPG PGSDIHGDPG FPGPPGERG PGEANTLPGP VGVPQGKGQD GAPGERGPPG SPGLQGFPGI TPPSNISGAP GDKGAPGIFG LKGYRGPPGP PGSAALPGSK GDTGNPGAPG TPPTKGWAGD SGPQGRPGVF GLPGEKGPRG EQGFMGNTGP TGAVGDRGPK GPKGDPGFP APGTVGAPGI AGIPQKIAIQ PGTVGPQRR GPAPGGEIG PQGPPGEPGF RGAPGKAGPQ GRGGVSAVPG FRGDEGPICH QGPIQEGAP GRPGSPGLPG MGRSVSIGY LLVKHSQTDQ EPMCPVGMNK LMSGYSLLYF EGQEKAHNQD LGLAGSCLAR FSTMPFLYCN PGDVCYYASR NDKSYWLSTT APLPMPVAE DEIKPYISRC SVCEAPAIAI AVHSQDVSIP HCPAGWRSIW ICYSFLMHTA AGDEGGGQSL VSPGSCLEDF RATPFIECNG GRGTCHYYAN KYFWLTTIP EQSFQGPSA DTLKAGLIRT HISRCQVCMK NL
10	p27	MEASALTSSA VTSVAKVVRV ASGSVVLP LARIATTVIGG VVMAAVPMV LSAMGFTAAG IASSIAAKM MSAAAIANGG GVASGSLVGT LQSLGATGLS GLTKFILGSI GSAIAAVIAR FY
11	Reticulocalbin	MARGGRRL GLALGLLAL VLAPRVLRK PTVRKERVVR PDSELGERPP EDNQSFQYDH EAFLGKEDSK TFDQLTPDES KERLGKIVDR IDNDGDGFVT TEELKTWIKR VQKRYIFDNV AKWKDYDRD KDDKISWEEY KQATYGYLNG NPAEFHDSSD HHTFKMLPR DERRFKAADL NGDLTATREE FTAFHLPEEF EHMKEIVVLE TLEDIDKNGD GFVDQDEYIA DMFSHEENG EPDWVLSERE QFNEFRDLNK DGKLDKDEIR HWILPQDYDH AQAEARHLVY ESDKNKDEKL TKEILENNWN MFVGSQATNY GEDLTKNHDE L
12	Aldehyde dehydrogenase 6	MATANGAVEN QPDGKPPAL PRPIRNLEVK FTKIFINNEW HESKSGKKFA TCNPSTREOI CEVEEGDKPD VDKAVEAAQV AFQRGSPWRR LDALSRGRLL HQLADLVERD RATLAALETM DTGKPFHLAF FIDLEGCIPT

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
13	Gravin	<p> LRYFAGWADK IQGKTIPTDD NVVCFTRHEP IGVCGAITPW NFPLLLMLVK LAPALCCGNT MVLKPAEQTP LTALYLGSLI KEAGFPFGVW NIVPGFGPTV GAALSSHPQI NKIAFTGSTE VGKLVKEAAS RSNLKRVTLE LGKNPCIVC ADADLDLAVE CAHQGVFFNQ GQCCTAASRV FVEEQYSEF VRRSVEYAKK RPYGDPDFDVK TEQGPQIDQK QFDKILELIE SGKKEGAKLE CGGSAMEDKG LFIKPTVFSE VTDNMRIAKE EIFGPVQPIL KFKSIEEVIV RANSTDYGLT AAVFTKNLKD ALKLASALES GTVWINCYNALYAQAPFGGF KMSGNGRELG EYALAEYTEV KTVTIKLGDK NP </p> <p> MGAGSSTEQR SPEOPPEGSS TPAEPEPSGG GPSAEAAPDT TADPAIAASD PATKLLQKNG QLSTINGVAE QDELSLQEGD LINGOKGALNG QGALNSQEEE EVIVTEVGQR DSEDVSRDS DKEMATKSAV VHDITDDGQE ENRNIEQIPS SESNLEELTQ PTESQANDIG FKKVPKFVGF KFTVKKDKTE KPDVTQQLTV KKDEGEAGAAG AGDHQDPSLG AGEAAKSESE PKQSTEKPEE TLKREQSHAE ISPPAESGQA VEECKEKEE KQEKEPSKSA ESPTSPVTSE TGSTFKKFFT QGWAGWRKKT SFRKPKEDEV EASEKKKEQE PEKVDTEEDG KAEVASEKLT ASEQAHPQEP AESAHEPRLS AEYEKVELPS EEQVSGSQGP SEEKPAPLAT EVFDEKIEVH QEEVVAEVHV STVEERTEEQ KTEVEETAGS VPAEELVGMD AEPOEAEPAK ELVKKLKETCV SGEDPTQCAD LSPDEKVLSK PPEGVVSEVE MLSSQERMKV QGSPLKKLFT STGLKKLSGK KQKGRGGGD EESGEHTQVP ADSPDSQEEQ KGESSASSPE EPEEITCLEK GLAEVQQDGE AEEGATSDGE KKREGVTPWA SFKKMVTPKK RVRPSESDDK EDELDKVKSA TILSSTESTAS EMQEEEMKGSV EEPKPEEPKR KVDTSVSWEA LICVGSKKR ARRRSSDEE GGPKAMGGDH QKADEAGKDK ETGTDGILAG SQEHDPGQGS SSPEQAGSPT EGEVSTWES FKRLVTPRKK SKSKLEEKSE DSIAGSGVEH STPDTEPGKE ESWSIKKFI PGRKKRPPDG KQEQAPVEDA GPTGANEDDS DVPVAVPLSE YDAVEREKME AQAQKGAEQ PEQKAATEVS KELSEQVHM MAAAADGTR AATIIERSP SWISASVTEP LEQVEAEAAAL LTEEVLREV IAFEEPTVT EPLPENREAR GDTVVSEAEI TPEAVTAAET AGPLGSEEGT EASAAEETTE MVSAVSQLTD SPDTTEEATP VQVEGGVDP IEEQERRTQE VLQAVAEKVK </p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		<p>EESQLPGTGG PEDVLQPVR AEAERPEEQ AASGLKKETD VVLKVDAQEA KTEPFTQGV VQQTTPESFE</p> <p>KAPQVTESIE SSELVTTTQQA ETLAGVKSQE MVMEQAIPPD SVETPTDSET DGSTPVADFD APGTTQKDEI</p> <p>VEIHEENEVA SGTQSGGTEA EAVPAQKERP PAPSSFVFQE ETKEQSKMED TLEHTDKEVS VETVSLSKT</p> <p>EGTQEQADQYA DEKTKDVFFF EGLEGSIDTG ITVSREKVTE VALKGEETEE AECKKDDALE LQSHAKSPPS</p> <p>PVEREMVVQV EREKTEAEPT HVNEEKLHE TAVTVSEEV KQLLQTVNVP IIDGAKEVSS LEGSPPPCILG</p> <p>QEEAVCTKI QVQSSEASFTL TAAAEKVKL GETANILETG ETLPEAGAH VLEEKSSSEKN EDFAAHPGED</p> <p>AVPTGPDCCA KSTPVIVSAT TKKGLSSDLE GEKTTSLKWK SDEVDEQVAC QEVKVSVAIE DLEPENGILE</p> <p>LETKSSKLQV NIIQTAVDQF VRTEETATEM LTSELQTOAH VIKADSQDAG QETEKEGEEP QASAQDETPI</p> <p>TSAKEESEST AVGOAHSDIS KDMSEASEKT MTVEVEGSTV NDQOLEEVVL PSEEEGGGAG TKSVPEDDGH</p> <p>ALLAERIEKS LVEPKEDKG DDVDDPENQN SALADTDASG GLTKESPDTN GPKQKEKEDA QEVELQEGKV</p> <p>HSESDKAITP QAQEELQKQE RESAKSELTE S</p>
14	Nidogen	<p>MLASSRIRA AWTRALLPL LLAGPVGCLS RQELFFPGPG QGDLELEDGD DFVSPAELLS GALRFYDRSD</p> <p>IDAVYVTNG IATSEPPAK ESHPGLPPT FGAVAPFLAD LDTTDGLGV YYREDLSPSI TQRAAECVHR</p> <p>GFPEISFQPS SAVVTWESV APYQGPSRDP DQKGRNTFQ AVLASSDSSS YAIFLYPEDG LQFHTTFSKK</p> <p>ENNOVPAVVA FSQGSVGFLW KSNAYNIFA NDRESIENLA KSSNSGQGV WVFEIGSPAT TNGWVPADVI</p> <p>LGTEGAEYD DEDEDYDLAT TRLGLEDVGT TPFSYKALRR GGADTYSVPS VLSPPRAATE RPLGPPTERT</p> <p>RSFQLAVETF HQQHPQVIDV DEVEETGVVF SYNTDSRQTC ANNRHQCSVH AECDYATGF CCSCVAGYTG</p> <p>NGRQCVAEGS QRVNGKVKG RIFVGSQVP IVFENTDLHS YVVMNHGRSY TALSTIPETV GYSLPLAPV</p> <p>GGIIGWFAV EQDGFKNQFS ITGGEFTQQA EVTFVGHFPGN LVIKQRFSGI DEHGHLTIDT ELEGRVPQIP</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
15	Phospholipase Epsilon	<p>FGSSVHIEPY TELYHYSTSV ITSSSTREYT VTEPERDGAS PSRIYTYQWR QTITFQECVH DDSRPALPST QQLSVDSVVFV LYNQEEKILR YAFSNSIGPV REGSPDALQN PCYIGTHGCD TNAACRPGPR TQFTCECSIG FRGDGRFCYD IDECSEQPSV CGSHITICNNH PGTFRCCEVE GYQFSDEGTC VAVVDQRPIN YCETGLHNCD IPQRAQCIYT GGSSYTCSCSCL PGFSGDQAC QDVDECQPSR CHPDAFCYNT PGSFTCQCKP GYQGDGFRCV PGEVEKTRCQ HEREHILGAA GATDPQRPPI PGLFVPECDA HGHYAPTQCH GSTGYCWCVD RDGREVEGTR TRPGMTPPCL STVAPPIHQG PAVPTAVIPL PPGTHLLFAQ TGKIERLPLE GNTMRKTEAK AFLHVPKAVI IGLAFDCVDK MYYWTDITEP SIGRASLHGG EPTTIIRQDL GSPEGIAVDH LGRNIFWTD NLDRIEVAKL DGTQRRVLFE TDLVNPRGIV TDSVRGNLYW TDWNRDNPKI ETSYMDGTNR RILVQDDLGL PNGLHFDAPS SOLCWVDAGT NRAECLNPSQ PSRRKALEGL QYPEAVTSYG KNLYFTDWKM NSVVALDLAI SKETDAFQPH KQTRLYGITT ALSQCPQGHN YCSVNNGGCT HLCLATPGSR TCRCPDNTILG VDCIERK</p> <p>MPSEKKISSA NDCISFMQAG CELKKVRPNS RIYNRFFTLTD TDLQALRWEP SKKDLEKAKL DISAIKEIRL GKNTETFTNN GLADQICEDC AFSILHGENY ESLDLVANS A DVANIWVSG L RYLVSRSKQP LDFMEGNQNT PRFMWLKTVF EAADV DNGI MLEDTSVELI KQLNPTLKEA KIRLKFKEIQ KSKEKLTRV TEEEFCEAFC ELCTRPEVYF LLVQISKKE YLDANDLMLF LEAEQGVTHI TEDICLDIIR RYELSEEGRQ KGFLAIDGFT QYLLSSECDI FDPEQKKVAQ DMTQPLSHYY INASHNTYLI EDQFRGPADI NGYIRALKMG CRSVELDVSD GSDNEPILCN RNNMTTHVSF RSVIEVINKF AFVASEYPLI LCLGNHCSLP QQKVMAQQMK KVFGNKLYTE APLFSESYP SPEKLKRMII VKGKKLPSPD DVLEGEVTDE DEEAQMSRMR SVDYNGEQKQ IRLCRELSDL VSICKSVQYR DFELSMKSN YWEMCSFSET EASRIANEYP EDFVYNKKF LSRIYPSAMR IDSSNLNPQD FWNCGCQIVA MNFQTPGPM DLHTGWFLQN GCGGYVLRPS IMRDEVSYS ANTKGILPGV SPLALHIKII SGQNFPPKPG ACAKGDVIDP YVCIEIHGIP ADCSEQRTKT VQQNSDNPIF DETFEFQVNL PELAMIRFVV LDDDYIGDEF IGOYTIPFEC LQPGYRHVPL RSFVGDI MEH VTLFVHIAIT NRSGGKAQK RSLSVRMGKK</p>

Abbildung 2

Seq.IDNO	Name	Proteinsequenz
		VREYTMRLNI GLKTIIDDFK IAVHPLREAI DMRENNQNAI VSIKELCGLP PIASLKQCLL TLSSRLITSD NTPSVSLVMK DSFPYLEPLG AIPDVQKKML TAYDLMIQES RFLIEMADTV QEKIVQCQKA GMEFHEELHN LGAKEGLKGR KLNKATESFA WNITVLKGQG DLLKNKNEA IENMKQIQLA CLSCGLSKAP SSSAEAKSKR SLEAIEEKES SEENGKL

US 0996140302P1



Creation date: 25-03-2003
Indexing Officer: YGEZAHEGN - YONATHAN GEZAHEGN
Team: CENTRALSCANPRINT
Dossier: 09961403

Legal Date: 29-01-2002

No.	Doccode	Number of pages
		59
1	SEQLIST	2
2	CRFS	5
3	PEFR	1
4	NDRW	30
5	DRW	4
6	OATH	

Total number of pages: 101

Remarks:

Order of re-scan issued on